

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1922

THÈSE

N^o 173

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Travail du Laboratoire de Chimie Médicale de la Faculté de Médecine
(Professeur DESGREZ)

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU DOSAGE

DE

L'ACIDE URIQUE

DANS L'URINE

PAR

CHARLES SANNIÉ

Licencié ès-Sciences

Né à Janville (E.-et-L.), le 28 Décembre 1896

Président : M. DESGREZ, Professeur

PARIS

AMÉDÉE LEGRAND, ÉDITEUR

93, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 93

1922



173

THÈSE
POUR
LE DOCTORAT EN MÉDECINE

113

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1922

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Travail du Laboratoire de Chimie Médicale de la Faculté de Médecine
(Professeur DESGREZ)

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU DOSAGE

DE

L'ACIDE URIQUE

DANS L'URINE

PAR

CHARLES SANNIÉ

Licencié ès-Sciences

Né à Janville (E.-et-L.) le 28 Décembre 1896



Président : M. DESGREZ, Professeur

PARIS

AMÉDÉE LEGRAND, ÉDITEUR

93, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 93

1922

Faculté de Médecine de Paris

DOYEN.....

M. ROGER

PROFESSEURS.....

MM.

Anatomie.....
Anatomie médico-chirurgicale.....
Physiologie.....
Physique médicale.....
Chimie organique et chimie générale.....
Bactériologie.....
Parasitologie et Histoire naturelle médicale.....
Pathologie et Thérapeutique générale.....
Pathologie médicale.....
Pathologie chirurgicale.....
Anatomie pathologique.....
Histologie.....
Pharmacologie et matière médicale.....
Thérapeutique.....
Hygiène.....
Médecine légale.....
Histoire de la médecine et de la chirurgie.....
Pathologie expérimentale et comparée.....

NICOLAS
CUNEO
CH. RICHET
André BROCA.
DESGREZ
BEZANÇON
BRUMPT
MARCEL LABBE
RENON
LECENE.
LETULLE
PRENANT
POUCHET
CARNOT
LÉON BERNARD
BALTHAZARD
MENETRIER
ROGER
ACHARD
WIDAL
GILBERT
CHAUFFARD
MARFAN
NOBECOURT

Clinique médicale.....

Hygiène et clinique de la 1^{re} enfance.....
Clinique des maladies des enfants.....
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'en-
céphale.....
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....
Clinique des maladies du système nerveux.....
Clinique des maladies contagieuses.....

X.
JEANSELME
PIERRE MARIE
TEISSIER
DELBET
LEJARS
HARTMANN
GOSSET
DE LAPERSONNE
LEGUEU
BAR
COUVELAIRE
BRINDEAU
J. L. FAURE
AUGUSTE BROCA
VAQUEZ
SEBILEAU
DUVAL

Clinique chirurgicale.....

Clinique ophtalmologique.....
Clinique des maladies des voies urinaires.....

Clinique d'accouchement.....

Clinique gynécologique.....
Clinique chirurgicale infantile.....
Clinique thérapeutique.....
Clinique oto-rhino-laryngologique.....
Clinique thérapeutique chirurgicale.....

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

ABRAMI
ALGLAVE
BASSET
BAUDOIN
BLANCHETIERE
BRANCA
CAMUS
CHAMPY
CHEVASSU
CHIRAY
CLERC
DEBRÉ
DESMARET

DUVOIR
FIESSINGER
GARNIER
GOUGEROT
GRÉGOIRE
GUENIOT
GUILLAIN
GUILLEMINOT
HEITZ-BOYER
JOYEUX
LABBE (HENRI)
LAIGNEL-LAVASTINE
LANGLOIS

LARDENNOIS
LE LORIER
LEMIERRE
LEQUEUX
LEREBoullet
LERI
LEVY-SOLAL
MATHIEU
METZGER
MOCQUOT
MULON
OKINCZYC
PHILIBERT

RATHERY
RETERER
RIBIERRE
RICHAUD
ROUSSY
ROUVIERE
SCHWARTZ (A)
TANON
TERRIEN
TIFFENEAU
VILLARET

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON PERE

A MA MÈRE

Faible témoignage de ma reconnaissance.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

M. LE PROFESSEUR DESGREZ

PROFESSEUR DE CHIMIE ORGANIQUE ET CHIMIE GÉNÉRALE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

A M. LE D^r BLANCHETIÈRE

PROFESSEUR AGRÉGÉ A LA FACULTÉ

DE MÉDECINE DE PARIS

Qu'il me soit permis d'exprimer ici toute ma respectueuse reconnaissance à mon Maître, M. le Professeur Desgrez, qui m'a ouvert son laboratoire, a guidé mes premiers pas dans la vie scientifique, et dont la paternelle bienveillance et les conseils éclairés m'ont permis de mener à bien ce modeste essai.

Je suis heureux également de remercier M. le D^r Bierry, chef de laboratoire de M. le Professeur Desgrez, et M. le D^r Bournigault, chef de laboratoire de M. le Professeur Robin, qui m'ont constamment aidé de leur science, de leur expérience et de leurs conseils.

Introduction

On peut diviser en trois principaux groupes les nombreux procédés de dosage, dans l'urine, de l'acide urique indépendamment des bases xanthiques.

Les uns sont basés sur la précipitation de ce corps par les métaux lourds, avec lesquels il forme des composés insolubles. Tels sont les procédés de Arthaud et Butte, Gautrelet, Denigès, Blarez et Tourrou, qui se servent des sels de cuivre, de Bellocq et Sauzéat qui emploient le zinc.

D'autres, au contraire, procédé Heintz-Schwanert, procédé de Salkowski-Ludwig et ses modifications par Denigès, précipitent l'acide urique en le déplaçant par un acide minéral, soit directement, soit après un premier isolement par l'azotate d'argent ammoniac-magnésien. Ce sont les premiers en date, et le procédé Salkowski est encore le plus précis.

Enfin les méthodes habituellement employées en clinique utilisent l'insolubilité de l'urate d'ammoniaque en présence d'un sel ammoniacal, puis oxydent l'urate ainsi isolé. Ce sont les méthodes de Ronchèse, qui oxyde par l'iode décinormale, de Folin et Schaffer qui emploient le permanganate de potasse.

Alors que pour l'acide urique seul les procédés abondent, pour la somme des corps puriques (acide urique + bases xanthiques) une seule méthode est couramment employée, la méthode Haycraft modifiée par Denigès : sa précision, sa rapidité, sa simplicité l'imposent.

Récemment, M. Thiéry a décrit un procédé basé sur un principe tout différent. Au lieu de précipiter l'acide urique de l'urine, il le sépare en insolubilisant toutes les bases puriques par la formation, au sein de l'urine, d'un précipité de ferrocyanure double de zinc et de potassium.

Enfin A. Grigaut, dans plusieurs communications à la Société de Biologie, et M. Thiéry, tout dernièrement dans le *Journal de Pharmacie et de Chimie*, ont préconisé l'application au dosage de l'acide urique dans l'urine du réactif phosphotungstique de Folin et Denis.

Nous nous sommes proposés d'étudier ici, ces deux derniers procédés.

Nous avons employé comme terme de comparaison pour le total des corps puriques, la méthode de Denigès telle qu'elle est décrite dans le « *Traité de chimie analytique* (1913, p. 1150) ; pour l'acide urique seul, la méthode de Ronchèse. Le titre de la solution de KCyN/10 a été vérifié tous les 15 jours environ.

La méthode de Ronchèse fut appliquée de deux manières : d'abord l'urate d'ammoniaque fut dissous directement sur le filtre par la soude bouillan-

te, puis on revint en milieu acide pour neutraliser toute la soude pouvant exister, qui aurait donné par son carbonate, une perte d'iode et causé des erreurs. Enfin le dosage fut terminé de la manière ordinaire par l'iode N/10, en milieu alcalin, obtenu grâce à 20 centimètres cubes d'une solution saturée de bicarbonate de potasse et de borax.

Ce procédé n'a pas donné de résultats meilleurs que la méthode classique d'entraînement de l'urate d'ammoniaque par un jet de pissette, redissolution par l'acide acétique dilué et retour en milieu alcalin par la solution boratée. Il est plus long, car les liqueurs doivent être absolument refroidies pour éviter toute erreur, mais peut-être aussi plus précis. La dissolution est totale et très rapide (ce qui reste sur le filtre est sans doute un résidu de phosphates et de pigments, et d'ailleurs se dissout en partie si on poursuit le lavage à la soude bouillante) et l'on est sûr de ne laisser aucune parcelle d'urate adhérente au filtre.

Un des gros inconvénients du Ronchèse est, non seulement la demi-heure d'attente pour la précipitation complète, mais surtout la lenteur de la filtration. Même avec des entonnoirs à filtration rapide, si le filtre n'adhère pas très bien, surtout si l'urine est albumineuse (ce qui était le cas pour une de nos séries), l'attente devient interminable : une heure et demie, deux heures et même plus. Si l'on emploie la trompe, le précipité ne peut plus être décollé, ou seulement par une quantité d'eau trop grande, qui gêne le dosage (dans ce cas, il vaut mieux dissoudre

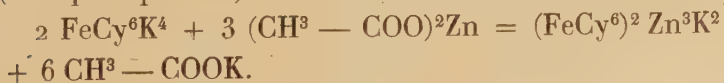
l'urate par la soude bouillante). Si on coagule l'albumine par la chaleur, le précipité entraîne toujours une certaine quantité de corps puriques.

Toutes ces raisons nous ont amené à rechercher, parmi les procédés récents, celui qui, avec une précision suffisante, permettrait des dosages en série.

I^{re} PARTIE

M. Thiéry, dans le *Journal de Pharmacie et de Chimie* du 16 juin 1921, a préconisé, pour la séparation des bases puriques d'avec l'acide urique, la défécation de l'urine par le ferrocyanure double de potassium et de zinc. M. le professeur Carrez, de Lille, dans les *Annales de Chimie analytique*, montra, en 1908, l'action défécante du ferrocyanure de zinc, créé au sein de l'urine de la manière suivante : à 50 cc³ d'urine ajouter 5 cc³ d'une solution de FeCy^6K^4 à 150 gr. pour 1000, puis, après agitation, 5 cc³ d'une solution de $(\text{CH}^3\text{COO})^2\text{Zn}$ à 300 gr. p. 1000. Entre autres choses, le réactif à ces concentrations précipitait les bases xanthiques (xanthine, adénine, guanine, sarcine, hypoxanthine, etc.) l'acide urique, l'alloxane, l'alloxantine et l'allantoïne en grande partie.

M. Thiéry a cherché ce qui se produirait si on traitait l'urine non par le réactif de Carrez, mais par des solutions équimoléculaires de ferrocyanure de potassium et d'acétate de zinc, suivant la réaction (indiquée par lui).



Il ne reste plus ainsi, dans le filtrat, de sels de zinc en excès, mais seulement de l'acétate de potassium, qui ne gêne pas les opérations ultérieures.

Voici la technique recommandée par l'auteur :

Dessécher 24 heures (jusqu'à poids constant), à l'étuve à 110° du ferrocyanure de potassium et de l'acétate de zinc purs et broyés.

Préparer une solution A =

Peser exactement $\text{Fe Cy}^6 \text{K}^4$ pur et sec 150 gr.

Introduire dans un matras jaugé et compléter avec :
Eau distillée q. s. p. 1000 gr.

Puis une solution B =

Peser exactement : $(\text{CH}_3\text{-COO})^2\text{Zn}$ pur et sec, 112 gr.

Introduire dans un matras jaugé et compléter avec
Eau dist. q. s. p., 1000 gr.

Les 0 gr., 09 d'acétate de zinc en excès sur la quantité théorique (111 gr. 91) ne gênent pas.

Acidifier par 5 à 10 cc³ d'acide acétique cristallisable. Filtrer.

Les solutions sont très stables.

Si à 100 cc³ d'urine on ajoute 10 cc³ de solution A et 10 cc³ de solution B, et que l'on filtre après avoir agité, le précipité retient la créatinine, les bases xanthiques, l'alloxane, l'alloxantine et l'allantoïne, mais, à « l'inverse du ferrocyanure de zinc préparé suivant les indications de Carrez, le ferrocyanure double de zinc et de potassium est absolument sans action sur l'acide urique ». (Thiéry, loc. cit).

On effectue d'abord un dosage des corps puriques totaux avec la méthode Haycraft-Denigès.

Dans 100 cc³ d'urine on verse en agitant 25 cc³ d'azotate d'argent ammoniacal magnésien N/20. Filtrer, prélever 100 cc³ du filtrat correspondant à 80 cc³ d'urine, y ajouter 10 cc³ de solution N/10 de KCy, 20 gouttes d'une solution de KI à 1/5° et verser avec une burette de l'azotate d'argent N/10 jusqu'à trouble persistant, soit n cc³. Le total x des corps puriques est donné par la formule : $x = n \text{ cc}^3 \times 0,068 \times \frac{1000}{80} = n \text{ cc}^3 \times 0,21$.

On effectue ensuite le même dosage après traitement par les solutions A ferrocyanurée et B zincique, de la manière suivante :

A 200 cc³ d'urine on ajoute 20 cc³ de solution A, et, après agitation, 20 cc³ de solution B. Filtrer. Appliquer la méthode de Denigès à 120 cc³ du filtrat, correspondant à 100 cc³ d'urine. Après traitement par la liqueur argenticomagnésienne N/20, on prélève 116 cc³ du filtrat au lieu de 100 cc³, de manière à opérer, comme dans le premier dosage, sur 80 cc³ d'urine puis on verse NO³AgN/10, soit n' cc³.

On obtient un chiffre $x' = n' \times 0,0168 \times \frac{1000}{80}$ ou $n' \times 0,21$.

x est le chiffre en grammes des corps puriques totaux par litre.

x' est le chiffre en grammes de l'acide urique par litre.

$x - x'$ représente les bases puriques de l'urine, exprimées en acide urique. Pour les avoir en xanthine, sachant que ce corps fixe deux atomes d'argent alors que l'acide urique n'en fixe qu'un, il faudra multiplier $x - x'$ par le rapport $\frac{76}{158} = 0,452$ (1).

Si, pour plus de commodité, on préfère opérer sur une autre quantité d'urine, ou sur 100 cc³ de filtrat, il suffit de multiplier n' par 0,0168 et par le rapport $\frac{1000}{Q}$ Q étant la quantité d'urine existant réellement dans le volume de liqueur où l'on a versé les n' cc³ d'azote d'argent $N/10$.

Cette technique offrait plusieurs avantages appréciables. La simplicité d'abord. Les filtrations sont très rapides, et, si l'on a un volume suffisant de liquide, les filtrats sont parfaitement clairs, condition indispensable pour la cyano-argentimétrie. Mais c'était surtout la similitude des procédés de dosage des purines totales et de l'acide urique seul, d'où résultait une instrumentation plus simple, la possibilité de dosages en série, surtout une compensation d'erreurs. On pouvait espérer obtenir, pour $x - x'$ tout au moins, un chiffre aussi exact que possible.

Mais de graves objections pouvaient, a priori, lui être faites. D'abord, d'après les travaux de de Ko-

(1) M. Thiéry signale qu'il faut multiplier $x - x'$ par 0,21 et par le rapport $76/158$. On aurait pour les bases puriques, en xanthine :
 $X = (x - x') \times 0,21 \times 0,452$. Il y a là une erreur.

ninck et Eugène Prost, le précipité formé n'est constant qu'en présence d'un excès de ferrocyanure de potassium. Or la modification de Thiéry au réactif de Carrez consistant justement à supprimer tout excès de l'un des réactifs, le précipité ne peut plus être considéré comme seulement du $(\text{FeCy}^6)^2 \text{Zn}^3 \text{K}^2$ et l'on ignore ainsi les réactions qui se produisent. De plus, le réactif de Carrez précipite l'acide urique : que l'on opère en présence de corps (phosphates, ammoniaque, corps organiques comme la créatinine, etc.) précipitant soit $(\text{CH}^3\text{COO})^2 \text{Zn}$, soit $\text{FeCy}^6 \text{K}^4$, l'équilibre est rompu, on retombe sur la formule de Carrez et on peut avoir des pertes en acide urique. Enfin, il peut se produire des pertes par absorption; et nous reviendrons sur cette question.

Il était donc nécessaire de vérifier la méthode en opérant, en solution aqueuse ou sodique pure, d'abord sur des bases puriques seules, sur de l'acide urique, puis sur des mélanges de composés puriques, enfin sur les mêmes composés en présence des constituants de l'urine, et en présence d'urine elle-même.

Et telle est en résumé la partie expérimentale qui suit.

Partie expérimentale

I) ESSAI SUR UNE SOLUTION D'ACIDE URIQUE

Environ 1 gramme d'acide urique pur et sec furent mis en suspension, dans un matras jaugé de 1000 cc³, dans 500 cc³ d'eau distillée et dissous par quelques

gouttes de lessive de soude pure. On compléta à 1000 cc³ avec de l'eau distillée.

Nous ne nous sommes pas attaché à avoir un poids exact d'acide urique absolument pur, (de même pour les bases puriques), la méthode de comparaison employée ne nécessitant pas une connaissance exacte de la quantité absolue de ces corps. Ce qui importait, c'était de savoir s'il y avait différence entre les solutions aqueuses pures traitées par le Haycraft Denigès et les mêmes après traitement par les liqueurs de ferrocyanure et d'acétate préparées ainsi qu'il a été dit :

Technique :

LIQUEUR A

50 cc³ de solution d'acide urique.

125 cc³ d'eau distillée.

20 cc³ d'eau distillée.

Volume total, 195 cc³.

LIQUEUR B

50 cc³ solution d'acide urique.

125 cc³ d'eau distillée.

10 cc³ solution ferrocyanurée A.

10 cc³ solution d'acétate de zinc B.

Volume total, 195 cc³.

On agite. On filtre la liqueur B.

Dans 50 cc³ prélevés sur A, et 50 cc³ sur B, on met respectivement 12 cc³ 5 de solution de NO³Ag

ammoniac-magnésien N/20. On filtre A et B, on prélève 25 cc³ de chaque, et l'on ajoute à chacun de ces volumes 5 cc³ d'une solution N/10 de KCy et 5 gouttes d'une solution de KI à 1/5°, puis on verse de l'azotate d'argent décinormal jusqu'à trouble persistant, soit :

pour le vase A témoin	0 cc ³ 25
pour le vase B	0 cc ³ 25

Il est inutile de calculer la quantité d'acide urique qui correspond à ces chiffres (on trouverait ici un peu moins que la quantité théorique). On peut conclure, avec Thiéry que l'acide urique, dans les conditions de l'expérience, n'est pas précipité par le mélange équimoléculaire ferrocyanure de potassium-acétate de zinc.

II) ESSAI SUR LES BASES PURIQUES

On a appliqué alors la même technique aux bases xanthiques que nous avons pu nous procurer : guanine, xanthine, plus tard hypoxanthine, provenant de Kahlbaum.

Aucune ne donnait de coloration avec le réactif phosphotungstique de Folin et Denis.

La réaction classique de la murexide (évaporation au bain-marie de quelques gouttes de solution de la base dans NO³H de d = 1,2 ; avec une goutte de lessive de soude ou de potasse, sans excès, sur le résidu jaunâtre, on a une coloration violette ; avec une goutte

te d'ammoniaque une coloration rouge) fut positive avec la xanthine et la guanine, négative avec l'hypoxanthine.

Une trace de base dans quelques gouttes d'HCl et une pincée de $\text{ClO}^3 \text{ K}$ fut portée à l'ébullition, évaporée au bain-marie à sec et placée sous une cloche avec une capsule pleine d'ammoniaque. Ici encore la xanthine et la guanine nous donnèrent la coloration rouge cramoisie caractéristique de la réaction de Weidel. Ni l'hypoxanthine, ni l'acide urique ne l'avaient donnée.

Enfin on put obtenir facilement les longs cristaux rectangulaires du chlorhydrate de guanine et les amas en oursins du nitrate de xanthine.

A) Essai sur une solution de guanine.

On fait dissoudre 0 gr. 10 du guanine dans 300 cc³ d'eau et 6 gouttes de lessive de soude.

Technique :

LIQUEUR A TÉMOIN

50 cc³ solution de guanine.

50 cc³ d'eau dist.

20 cc³ d'eau dist.

Volume total, 120 cc³.

LIQUEUR B

50 cc³ sol. guanine.

50 cc³ eau dist.

10 cc³ sol. FeCy⁶K⁴.

10 cc³ sol. (C H³-COO)² Zn.

Volume total, 120 cc³.

On filtre B.

Dans 50 cc³ de A, on verse 12 cc³,5 de NO³Ag ammoniac-magnésien N/20, on filtre, et à 25 cc³ du filtrat A on ajoute 5 cc³ de KCy N/10 et 5 gouttes de KI 1/5°. On verse de NO³Ag N/10 soit 0 cc³ 3.

On agit de la même façon sur 50 cc³ provenant de B on verse en No³ag-N/10, 0 cc³ 3.

Ainsi, contrairement aux résultats antérieurs, la guanine en solution sodique pure n'est pas précipitée par le réactif de Thiéry.

On peut objecter que la guanine ne se trouve dans l'urine qu'à l'état de traces indosables, si même elle existe. Aussi l'expérience fut répétée sur une des bases puriques types de l'urine : la xanthine.

B) *Essai sur une solution de xanthine.*

On fit une dissolution de xanthine dans 250 cc³ d'eau et 5 gouttes de lessive de soude. La technique suivie fut la même que pour la guanine.

LIQUEUR A TÉMOIN

50 cc³ sol. xanthine.

50 cc³ d'eau dist.

20 cc³ d'eau dist.

Volume total, 120 cc³.

LIQUEUR B

50 cc³ sol. xanthine.

50 cc³ d'eau.

10 cc³ sol. FeCy⁶K⁴.

10 cc³ sol. d'acétate de zinc.

Volume total, 120 cc³.

1^{er} dosage :

La liqueur A sature 0 cc³ 25 NO³Ag N/10.

La liqueur B en sature 0 cc³ 35.

La solution B était trouble après filtration, et il est possible que le ferrocyanure double qui avait traversé le filtre ait précipité de l'argent. Le fait s'est reproduit plusieurs fois dans la suite. On a repris la même expérience, mais après avoir filtré la liqueur B claire, et avoir vérifié les titres des solutions de KCy N/10 et d'azotate d'argent N/20 qui étaient d'ailleurs exacts.

2^e dosage : la liqueur A nécessite : 0 cc³ 25 NO³Ag N/10 ; la liqueur B : 0 cc³ 25.

Un 3^e dosage de contrôle donne :

Pour A : 0 cc³ 25 et pour B : 0 cc³ 25 NO³Ag N/10.

Il semble donc que la xanthine en solution sodique pure ne précipite pas elle aussi par le réactif zinco-potassique.

C) *Essai sur un mélange des solutions sodiques de xanthine et de guanine.*

LIQUEUR A TÉMOIN

50 cc³ de sol. de xanthine à 0 gr. 10 p. 250.

50 cc³ de sol. de guanine à 0 gr. 10 p. 300.

70 cc³ d'eau dist.

Volume total, 170 cc³.

LIQUEUR B

50 cc³ sol. xanthine.

50 cc³ sol. guanine.

50 cc³ eau dist.

10 cc³ FeCyK⁴.

10 cc³ sol. (CH³-COO)²Zn.

Volume total, 170 cc³.

On filtre B. On opère sur 100 cc³ des liqueurs A et B.

On verse : pour A : 0 cc³ 5 NO³Ag N/10 ; pour B : 0 cc³ 5 NO³Ag N/10.

Le mélange des bases passe comme les bases séparées.

D) *Essai sur un mélange des solutions d'acide urique et de bases puriques.*

LIQUEUR A TÉMOIN

125 cc³ d'une sol. d'acide urique à env. 1 gr. p. 1000.

50 cc³ sol. xanthine à 0 gr. 10 p. 250.

50 cc³ sol. guanine à 0 gr. 10 p. 300.

75 cc³ d'eau dist.

60 cc³ d'eau dist.

Volume total 360 cc³.

LIQUEUR B

125 cc³ sol. d'acide urique.

50 cc³ sol. xanthine.

50 cc³ sol. guanine.

75 cc³ eau dist.

30 cc³ sol. FeCy⁶K⁴.

30 cc³ sol. acétate de zinc.

Volume total 360 cc³.

Les résultats sont encore identiques : 3 cc³ 2 pour les deux liqueurs.

Le mélange des corps xanthiques avec l'acide urique, en solution sodique pure, n'est donc pas non plus modifiée par l'action du ferrocyanure double de potassium et de zinc.

Nous nous sommes alors demandé si les résultats obtenus par M. Thiéry n'étaient pas dus à la présence dans l'urine d'autres éléments qui permettent une insolubilisation plus ou moins grande des purines. Nous avons recherché l'influence des éléments urinaires en les ajoutant aux solutions précédentes, en créant, en un mot, une urine artificielle.

Pour cela, dans un matras jaugé de 1 litre, on dissout séparément dans q. s. d'eau :

Urée, 20 gr.

SO^4K^2 , 3 gr.

NaCl , 8 gr.

MgCl^2 , 0 gr. 30.

Phosphate d'ammoniaque, 0 gr. 50.

Acide urique 0 gr. 50.

Dans un ballon de 500 cc³, on place dans 300 cc³ d'eau :

Acide urique : 0 gr. 25.

Xanthine : 0 gr. 05.

Hypoxanthine : 0 gr. 05.

que l'on dissout grâce à : $\text{PO}^4\text{Na}^2\text{H}$, 3 gr.

Quelques gouttes de soude à chaud dissolvent le résidu.

On verse la solution d'acide urique dans le matras d'un litre. Le trouble qui se forme disparaît avec un peu d'acide acétique, sans arriver à l'acidité. La liqueur est alors neutre et à peu près claire. On complète à un litre et on filtre.

On continue sur cette solution les opérations précédentes :

LIQUEUR A TÉMOIN

100 cc³ d'urine artificielle.

20 cc³ d'eau.

Volume total, 120 cc³.

LIQUEUR B

100 cc³ urine^f artificielle.

10 cc³ sol. FeCy⁶K⁴.

10 cc³ sol. acétate de zinc.

Volume total 120 cc³.

On filtre, et on prélève 100 cc³ de chaque filtrat, correspondant à 80 cc³ d'urine artificielle.

LIQUEUR A

1^{er} dosage : 2 cc³,2 NO³Ag N/10.

2^e dosage : 2 cc³,25 NO³Ag N/10.

LIQUEUR B

1^{er} dosage : 1 cc³,95 NO³Ag N/10.

2^e dosage : 1 cc³,95 NO³Ag N/10.

Pour nous rendre compte si le chiffre donné par la liqueur B correspondait bien à l'acide urique, nous avons fait un dosage par la méthode de Ronchèse sur l'urine artificielle.

On a versé 5 cc³,8 d'iode N/10 correspondant à 0 gr. 97 d'acide urique et la quantité d'acide urique trouvée pour la liqueur B est égale à 1 cc³,95 ×

$$0,0168 \times \frac{1000}{66,66} = 1,95 \times 0,254 = 0 \text{ gr. } 495.$$

Il semble donc que, pour une cause qui n'apparaît pas très nettement, il y a eu arrêt partiel des corps puriques par le ferrocyanure. Nous avons cherché à voir s'il en était de même dans l'urine humaine à la-

quelle on ajoutait des quantités connues de bases xanthiques (1).

Voici les résultats obtenus :

1^{re} expérience :

Liqueur A : 50 cc³ urine + 70 cc³ eau dist. Volume total, 120 cc³.

Liqueur B : 50 cc³ urine + 50 cc³ xanthine + 20 cc³ eau dist. Volume total, 120 cc³.

Liqueur C : 50 cc³ urine + 50 cc³ eau dist. + 10 cc³ 10 cc³ FeCy⁶K⁴ + 10 cc³ acétate. Vol. tot. 120 cc³.

Liqueur D : 50 cc³ urine + 50 cc³ sol. xanthine + 10 cc³ FeCy⁶K⁴ + 10 cc³ acétate. Vol. tot. 120 cc³.

On filtre les liqueurs C et D. On opère sur 100 cc³ de chaque.

Voici les résultats pour chaque liqueur (en centimètres cubes de NO³Ag N/10).

Liqueur A 1 cc³,7 NO³Ag N/10 ou 0 gr. 685 ac. uriq.

» B 2 cc³, » » 0 gr. 806 »

» C 1 cc³,4 » » 0 gr. 564 »

» D 1 cc³,55 » » 0 gr. 62 »

Les vases C et D devraient être identiques si la xanthine était totalement arrêtée. Ici encore, par suite du faible volume, les liqueurs étaient troubles. On retrouve la quantité de xanthine ajoutée dans B.

2^e expérience : Mêmes conditions.

Liq. A. 100 cc³ urine + 50 cc³ eau dist. + 50 cc³ eau dist. + 40 cc³ eau dist. Vol. total 240 cc³.

(1) Solution sodique de xanthine, à 0 gr. 05 pour 50 cc³ eau dist.

Liq. B, 100 cc³ urine + 50 cc³ sol. xanthine + 50 cc³ eau + 40 cc³ eau. Vol. total 240 cc³.

Liq. C, 100 cc³ urine + 50 cc³ eau + 50 cc³ eau + 20 cc³ FeCy⁶K⁴ + 20 cc³. Acétate Zn. Vol. tot. 240 cc³.

Liq. D, 100 cc³ urine + 50 cc⁶ eau + 50 cc³ sol. xanthine + 20 cc³ FeCy⁶K⁴ + 20 cc³ acétate. Vol. total 240 cc³.

On filtre C et D.

A 100 cc³ de chacune des liqueurs précédentes, on ajoute 25 cc³ d'N O³Ag ammoniaco-magnésien N/20.

On prélève 100 cc³ des filtrats à chacun desquels on ajoute 10 cc³ KCy N/10 et 20 gouttes KI à 1/5^e.

Nous donnons ici, à titre d'exemple, les correspondances en acide urique et base purique des chiffres indiqués en centimètres cubes NO³Ag N/10 :

Résult : en centic. NO³Ag N/10 ; en acid.ur.p. 1000 gr.

Liq. A 1 cc³, 0 gr. 403

Liq. B 1 cc³, 1 0 gr. 443

Liq. C 0 cc³, 85 0 gr. 342

Liq. D 0 cc³, 85 0 gr. 342

On trouve en xanthine dans la liqueur B :

0 gr. 443 — 0,403 = 0 gr. 04 exprimée en acide urique.

et 0,04 × 0,452 = 0 gr.,0171 exprimé en xanthine, pour 1.000 cc³, ce qui correspond bien à ce qui est ajouté = En effet :

Dans 240 cc³ on a ajouté 50 cc³ sol. xanthine à 0, gr. 01 p. 100 ou 0 gr. 005 xanthine.

Et dans 1000 cc³ on a ajouté en xanthine

$$\frac{0,005 \times 1.000}{240} = 0 \text{ gr. } 02 \text{ (p. 1000).}$$

3^e expérience.

On a ajouté ici à un volume connu d'urine des volumes connus de solutions d'acide urique à 1 gr. p. 1000 et de xanthine à 0 gr. 1 p. 1000.

Liq. A, 50 cc³ urine + 120 cc³ eau dist. volume total 170 cc³.

Liq. B, 50 cc³ urine + 50 cm³ sol. ac. urique + 50 cc³ sol. xanthine + 20 cc³ eau, volume total 170 cc³.

Liq. C, 50 cc³ urine + 100 cc³ eau + 10 cc³ FeCy⁶K⁴ + 10 cc³ (CH³COO)²Zn ; vol. total 170 cc³.

Liq. D, 50 cc³ urine + 50 cc³ ac. urique + 50 cc³ eau + 10 cc³ FeCy⁶K⁴ + 10 cc³ acétate, vol. total 170 cc³.

Liq. E, 50 cc³ urine + 50 cc³ eau + 50 cc³ sol. xanthine + 10 cc³ FeCy⁶K⁴ + 10 cc³ acétate, vol. total 170 cc³.

Résultats : en centimètres cubes de NO³Ag N/10.

Liq. A	1 cc ³ 85	ou	1 gr. 05	en ac. urique p. 1000
Liq. B	2 cc ³ 5	»	1 gr. 42	d'urine ou de
Liq. C	1 cc ³ 8	»	1 gr.	sol. urine + acide
Liq. D	1 cc ³ 4	»	1 gr. 37	urique + xanthine
Liq. E	1 cc ³ 75	»	0 gr. 997	

4^e expérience : solution d'hypoxanthine à 0 gr. 05 pour 500.

Liq. A, 50 cc³ urine + 120 cc³ eau. Vol. total 170 cm³.

Liq. B, 50 cc³ urine + 100 cc³ sol. xanthine + 10 cc³ FeCy⁶K⁴ + 10 cc³ acétate. Vol. total 170 cc³.

Liq. C, 50 cc³ urine + 100 cc³ sol. hypoxanthine + 10 cc³ FeCy⁶K⁴ + 10 cc³ acétate. Vol. total 170 cc³.

Liq. D, 50 cc³ urine + 100 cc³ sol. ac. urique + 10 cc³ FeCy⁶K⁴ + 10 cc³ acétate. Vol. total 170 cc³.

Liq. E, 50 cc³ urine + 100 cc³ eau + 10 cc³ FeCy⁶K⁴ + 10 cc³ acétate de zinc. Vol. total 170 cc³.

On filtre B, C, D et E. On opère sur 100 cc³ de filtrat.

Résultats : en cc³ NO³Ag N/10.

Pour A : 0 cc³ 75.

Pour B : 0 cc³ 8.

Pour C : 0 cc³ 7.

Pour D : 1 cc³ 5.

Pour E : 0 cc³ 7.

Les chiffres sont, aux erreurs d'expérience près, identiques, sauf dans le vase D où l'on a ajouté la solution d'acide urique, qui n'est pas précipitée par le réactif.

Discussion

La première partie de cette série d'expériences montre que les bases puriques, en solution sodique pure, et dans les conditions où nous nous sommes

placé, ne sont pas retenues par le ferrocyanure de potassium et l'acétate de zinc, aux concentrations indiquées par Thiéry. La seconde partie montre au contraire que, dans le milieu complexe qu'est l'urine, ou dans un milieu complexe artificiel analogue, il y a une différence entre les liqueurs témoins et les liqueurs traitées par le réactif. Ceci explique que les résultats publiés dans le *Journal de Pharmacie et de Chimie* concordent avec ceux que donne le Ronchèse.

Pourtant nous n'avons pas adopté ce procédé. D'abord parce qu'il nécessite 150 à 200 cc³ d'urine. Si l'on part de 100 cc³ seulement, la filtration devient interminable, pour une quantité de filtrat de 100 cc³ ; les dernières gouttes sont souvent troublées par du précipité qui, à ce moment, traverse le filtre. Nous avons déjà signalé, à plusieurs reprises, et l'on retrouvera dans les séries qui suivent, les causes d'erreurs dues à un liquide trouble. Enfin nous avons trouvé assez souvent des résultats s'éloignant de plusieurs centigrammês de ceux obtenus par le Ronchèse, et presque toujours par excès. Sans doute, dans les conditions où nous opérons, la précipitation n'est plus complète. Elle paraît d'ailleurs ne jamais l'être, même avec le réactif de Carrez, ainsi que le montre l'essai suivant : à 50 cc³ d'une urine normale on ajouta 5 cc³ d'une solution de FeCy^6K^4 à 150 gr. pour 1000 et 15 cc³ d'une solution d'acétate de zinc à 112 gr. pour 1000. On était ainsi dans les limites de concentration indiquées par

Carrez (150 gr. p. 1000 pour FeCy^6K^4 ; 300 gr. p. 1000 pour $(\text{CH}^3\text{COO})^2\text{Zn}$). Sur 1 cc³ du filtrat on ajouta 2 cc³ de réactif phosphotungstique et on compléta à 25 cc³ avec la solution saturée de CO^3Na^2 . La réaction fut franchement positive, intense, indiquant environ 0 gr. 10 d'acide urique dans la solution. Le même essai fait en remplaçant l'urine par de l'eau fut négatif. Même avec le réactif de Carrez, il passe de l'acide urique ; même avec le réactif de Thiéry les bases en solution pure ne sont pas précipitées.

Il est possible que les corps puriques entraînés par la floculation du ferrocyanure double ne soient liés au précipité que par des phénomènes d'absorption. Ainsi que l'a montré Toporescu dans sa thèse de sciences, l'entraînement des corps solubles par les précipités varie avec de nombreux facteurs, en particulier avec les concentrations de chacun des constituants du précipité, et avec celles des corps entraînés. L'erreur analytique varie dès lors dans des proportions considérables.

On peut aussi bien supposer qu'une combinaison saline, se fixant sur l'un ou l'autre réactif, empêche la réaction d'être complète, et que l'un de ces deux sels en excès agisse sur les corps puriques pour les précipiter, à l'état de sel double par exemple. Et ceci expliquerait que les solutions pures de corps puriques ne sont pas modifiées, alors que l'introduction des éléments de l'urine donne des résultats positifs. On doserait ainsi simplement la partie non

précipitée du complexe acide urique + bases xanthiques, variable avec la concentration des autres éléments.

Il est donc bien difficile d'admettre que l'on puisse baser une méthode sur des réactions aussi complexes et aussi variables, réactions qui nous sont d'ailleurs inconnues.

II^e PARTIE

Dans les dosages en série que nous avons exécutés au laboratoire de M. le professeur Desgrez, il s'agissait de contribuer à une étude très complète d'urine pathologique, étude nécessitant des quantités d'urines relativement considérables. Même si le procédé Thiéry s'était montré satisfaisant, il n'aurait pu être que difficilement employé, nécessitant une prise d'essai de 200 cc³, ou au moins 150 cc³. Le Ronchèse lui-même, exigeant une prise d'essai théoriquement de 100 cc³, dut être quelquefois pratiqué sur 50 cc³ seulement, aux dépens de la précision. Nous avons alors cherché à connaître, par rapport aux méthodes dont nous nous étions servis précédemment : Haycraft-Denigès, Ronchèse, procédé de Thiéry, la valeur du procédé employé et décrit par Grigaut, puis par Thiéry, dans le *Journal de Pharmacie et de Chimie* du 1^{er} février 1922, qui ne nécessitait que quelques centimètres cubes d'urine. Elle est basée sur la spécificité du réactif phosphotungstique, mise en évidence par Otto Folin et W. Denis, dans *The Journal of Biological Chemistry*, t. XII, 1912.

Suivant la technique préconisée par ces auteurs, le réactif fut ainsi préparé :

On introduit dans un ballon ou une fiole d'Erlenmeyer munie d'un réfrigérant à reflux :

Tungstate de soude pur et sec.....	10 gr.
PO^4H^3 à 80 p. 100 (60° B.).....	8 cc ³
Eau distillée.....	q. s. p. 100 cc ³

On porte à une ébullition douce pendant deux heures. Le réfrigérant empêche toute concentration. Nous avons alors remarqué qu'il se faisait une réduction partielle du phosphotungstate formé, réduction caractérisée par l'apparition d'une teinte d'abord verte, puis bleue, se fonçant de plus en plus à mesure que l'ébullition avançait. Cette réduction devait être causée par l'action de la chaleur sur le résidu très mince du réactif étalé sur les parois du ballon, car elle était beaucoup plus rapide et plus intense si l'on agitait le ballon de temps en temps, pour en laver les parois.

Nous n'avons pu arriver à obtenir un liquide incolore qu'avec vingt minutes d'ébullition, et en remplaçant les 8 cc³ de PO^4H^3 à 60° par 12 cc³ de PO^4H^3 à 45°. Nous avons ainsi préparé tous les échantillons, depuis le réactif incolore ayant bouilli vingt minutes, jusqu'à celui fortement teinté après deux heures, et le même décoloré par le permanganate de potassium, et conservant seulement une légère teinte verte. Enfin nous avons fait une dissolution d'acide phosphotungstique cristallisé pur, suivant la formule :

Acide phosphotungstique pur crist. 10 gr.

Eau distillée q. s. p. 100 cc³.

Nous avons ensuite préparé un étalon d'acide urique de la manière suivante :

Dans un flacon jaugé de 500 cc³ on fit dissoudre 6 gr. 49 de phosphate disodique cristallisé pur à 12 H²O, non efflorescent, et l'on y versa une quantité convenable, mesurée préalablement, de PO⁴H³ dilué pour transformer q. s. de PO⁴Na²H en 1 gr. de PO⁴NaH². La solution contenait alors 5 gr. de PO⁴Na²H à 12 H²O et 1 gr. de PO⁴NaH². On ajouta à cette solution 20 centigrammes pesés très exactement d'acide urique pur et desséché à l'étuve à 110° pendant 2 heures. La dissolution est rapide à chaud. Au début, nous renouvelâmes la solution tous les 4 jours, puis on la conserva par 5 cc³ de CHCl³.

Les différents réactifs préparés furent alors essayés, simultanément sur la solution étalon et sur de l'urine, en mettant dans des éprouvettes 1 cc³ d'urine ou de solution étalon, 1 cc³ de réactif et en complétant à 25 cc³ par une solution saturée de carbonate de soude (à 150 gr. pour 1000).

On put ainsi constater :

1°) Que le réactif préparé avec l'acide phosphotungstique cristallisé ne donnait aucune coloration, ni avec l'urine, ni avec la solution étalon, mais donnait un précipité beaucoup plus abondant que tous les autres.

2°) Que le réactif incolore préparé avec le PO⁴H³ à 45° et après vingt minutes d'ébullition donnait une

coloration très nette, mais très peu intense, aussi bien avec l'urine qu'avec la solution étalon.

3°. Que le réactif fortement coloré, préparé après deux heures d'ébullition et de l'acide phosphorique à 80 p. 100 donnait une coloration intense, maximum après 15 minutes environ et stable, aussi bien avec l'urine qu'avec l'étalon.

4° Que le même réactif, décoloré par quelques gouttes de solution de MnO_4K très étendue, donnait la même réaction, à peine moins intense.

Dans tous les cas de la seconde série, faite avec de l'urine diabétique, il est venu se surajouter à la teinte propre de la réaction phosphotungstique une coloration surajoutée jaune verte.

Ainsi que le recommande Grigaut et Thiéry, ce qui est important, c'est d'opérer sur des concentrations de l'urine et de l'étalon aussi voisines que possible. Thiéry propose de constituer une échelle colorimétrique dans plusieurs éprouvettes graduées, contenant respectivement 1, 2, 3, 4 et 5 cc³ d'une solution type à 0 gr. 20 pour 1000. Dans les séries que nous exposons plus loin, il n'a pas été nécessaire de recourir à cette manœuvre. L'acide urique était préalablement dosé par la méthode cyano-argentimétrique, celle de Ronchèse et celle au ferrocyanure double de K et Zn. Partant d'un étalon à 0 gr. 40 pour 1000, il nous suffisait d'ajouter plus ou moins d'urine ou d'étalon pour être dans les limites des bonnes lectures. Aussi indiquerons-nous, à chaque dosage, les quantités de solution étalon et d'urine employées.

Nous avons remarqué que les résultats de la méthode de Grigaut étaient de plus en plus élevés à mesure que l'urine était moins fraîche, pour être tout à fait troublés quand il y avait véritable fermentation. Nous n'avons pu ainsi doser le 1^{er} jour de la série II, et le second lui-même doit être sujet à caution. Il s'agit là d'urines ayant 4 jours au moins, fortement sucrées, et à un moment où la température était assez élevée.

La technique pour la lecture colorimétrique fut la suivante : Le colorimètre définitivement orienté et uniformément éclairé, on fit 3 lectures avec le témoin à droite et 3 lectures avec le témoin à gauche. On annulait ainsi par compensation les erreurs dues au colorimètre et aux différences d'éclairage. La lecture moyenne est seule donnée ici.

Partie expérimentale

I^{re} SÉRIE

Il s'agit ici d'urines quelconques provenant de sujets sains et soumis à une alimentation mixte ordinaire, plus ou moins riche en corps puriques. Le volume des vingt-quatre heures n'est pas connu. Pour cette série la solution étalon d'acide urique fut préparée exactement comme l'indique Grigaut, mais en doublant la concentration, soit 0 gr. 40 p. 1000.

*Acide urique + bases puriques totales par le
Haycraft Denigès*

Urines	Cc ³ NO ³ Ag N/10	Total en gr. par litre
N ^o 1	2 cc ³ ,2	o gr. 462
N ^o 2	3 cc ³ ,55	o gr. 745
N ^o 3	2 cc ³ ,4	o gr. 504
N ^o 4	3 cc ³ ,8	o gr. 798
N ^o 5	3 cc ³ ,4	o gr. 714
N ^o 6	2 cc ³ ,7	o gr. 562
N ^o 7	1 cc ³ ,1	o gr. 231
N ^o 8	2 cc ³ ,7	o gr. 562

Acide urique par le Ronchèse

Urines	Cc ³ Iode N/10	Total en gr. par litre	Base puriques seules en gr. par litre
N ^o 1	4 cc ³ ,6	o gr. 386	o gr. 035
N ^o 2	7,4	o gr. 621	o gr. 056
N ^o 3	4,5	o gr. 388	o gr. 052
N ^o 4	7 cc ³ ,1	o gr. 596	o gr. 091
N ^o 5	6,7	o gr. 574	o gr. 063
N ^o 6	5,2	o gr. 446	o gr. 052
N ^o 7	2,3	o gr. 20	o gr. 014
N ^o 8	4,9	o gr. 421	o gr. 063

Acide urique par le procédé de Thiéry

Urines	Cc ³ NO ³ Ag N/10	Total en gr. par litre	Bases xantiques en gr. par litre
N ^o 1	1 cc ³ ,7	o gr. 425	o gr. 016
N ^o 2	2,5	o gr. 625	o gr. 054
N ^o 3	2,3	o gr. 57	La liqueur avait conservé une certaine quantité de ferrocyanure double. Nous n'avons pu refaire un dosage.

Urines	Cc ³ NO ³ Ag N.10	Total en gr. par litre	Bases xanthiques en gr. par litre
N ^o 4	2 cc ³ ,9	o gr. 736	o gr. 028
N ^o 5	2,6	o gr. 655	o gr. 0266
N ^o 6	2,00	o gr. 504	o gr. 0265
N ^o 7	1,3	o gr. 327	Ici encore liqueurs troubles
N ^o 8	1,9	o gr. 479	o gr. 0375

*Acide urique par le procédé colorimétrique
de Folin et Denis*

Urines	Lecture moyenne en m,m	Concentration de l'étalon en gr. p. 1000	Nombre de cc3 d'urine utilisés pour la réaction	Acide urique en gr. par litre	Bases en gr. par litre
N° 1	14 ^{mm} ,1	0 gr. 40	1 cc3	0 gr. 43	0 gr. 0144
N° 2	9 ^{mm}	0 gr. 40	1 cc3	0 gr. 668	0 gr. 0348
N° 3	17 ^{mm} ,7	0 gr. 40	1 cc3	0 gr. 452	0 gr. 0235
N° 4	10 ^{mm} ,98	0 gr. 80	1 cc3	0 gr. 73	0 gr. 0306
N° 5	10 ^{mm} ,15	0 gr. 40	1 cc3	0 gr. 592	0 gr. 055
N° 6	11 ^{mm} ,9	0 gr. 40	1 cc3	0 gr. 504	0 gr. 0261
N° 7	13 ^{mm} ,8	0 gr. 40	2 cc3	0 gr. 217	0 gr. 005
N° 8	13 ^{mm} ,	0 gr. 40	1 cc3	0 gr. 461	0 gr. 045

Les lectures ont été faites sous une épaisseur de l'étalon de 15 millimètres sauf pour le n° 3 qui fut examinée sous une épaisseur de 20 mm. pour l'étalon, et pour le n° 4 sous une épaisseur de 10 mm.

Le chiffre d'acide urique est donné par la formule :

$$x = C \times \frac{h}{h'}$$

C étant la concentration de l'étalon, h la hauteur en millimètres sous laquelle on examinait le témoin et h' celle sous laquelle on examinait l'urine.

La différence entre le chiffre obtenu par le procédé Denigès et x, multipliée par 0,452, donna le chiffre des bases puriques.

II° SÉRIE

Cette série est particulièrement intéressante. Il s'agit d'un diabétique qui est passé en huit jours successivement de 2870 centimètres cubes par 24 heures à 1160, puis de nouveau à 5800. On y trouve tous les

taux d'acide urique, depuis 0 gr. 11 jusqu'à 0 gr. 50 par litre.

Corps puriques totaux par le Haycraft Denigès

Dates des urines	Volume	Nombre de cc ³ de NO ₃ Ag N/10	Acide urique et Bases en gr. : par litre	par 24 h.
5 au 6 mars	2570	1 cc ³ 6	0 gr. 336	0 gr. 863
6 au 7 mars	1870	2 cc ³	0 gr. 42	0 gr. 785
7 au 8 mars	1900	1 cc ³ 6	0 gr. 336	0 gr. 638
8 au 9 mars	1560	2 cc ³	0 gr. 42	0 gr. 655
9 au 10 mars	1375	2 cc ³ 6	0 gr. 546	0 gr. 75
10 au 11 mars	1160	2 cc ³ 4	0 gr. 504	0 gr. 58
11 au 12 mars	3380	1 cc ³ 1	0 gr. 231	0 gr. 777
12 au 13 mars	5800	0 cc ³ 6	0 gr. 126	0 gr. 73

Acide urique : Ronchèse

Date des urines	Cc ³ Iode N/10	Acide urique en gr. par litre	Acide urique en gr. par jour
5 au 6	3 cc ³ 1	0 gr. 27	0 gr. 694
6 au 7	3 cc ³ 8	0 gr. 33	0 gr. 617
7 au 8	3 cc ³	0 gr. 262	0 gr. 50
8 au 9	3 cc ³ 4	0 gr. 295	0 gr. 46
9 au 10	5 cc ³ 9	0 gr. 487	0 gr. 667
10 au 11	4 cc ³ 9	0 gr. 422	0 gr. 487
11 au 12	2 cc ³ 3	0 gr. 203	0 gr. 686
12 au 13	1 cc ³ 3	0 gr. 11	0 gr. 638

Acide urique : Thiéry

Dates des urines	Cc ³ NO ₃ Ag N/10	Acide urique en gr. par litre	id. : en gr. par jour
5 au 6	1 cc ³ 4	0 gr. 350	0 gr. 899
6 au 7	1 cc ³ 9	0 gr. 479	0 gr. 897
7 au 8	1 cc ³ 1	0 gr. 275	0 gr. 522
8 au 9	1 cc ³ 4	0 gr. 35	0 gr. 546
9 au 10	2 cc ³	0 gr. 50	0 gr. 687
10 au 11	1 cc ³ 7	0 gr. 425	0 gr. 493
11 au 12	0 cc ³ 85	0 gr. 21	0 gr. 71
12 au 13	0 cc ³ 5	0 gr. 115	0 gr. 667

Acide urique : Colorimétrie

Date des urines	Moyenne des lectures en m/m	Concentration : étalon en gr. pour 1000	Nombre de cc d'urine utilisés pour la réaction	Haut eur des témoins en m m	Acide urique	
					en gr. par litre	en gr. par jour
5 au 6	»	»	»	»	»	»
6 au 7	15 ^{mm} ,81	0 gr. 4	1 cc3	15 ^{mm}	0 gr. 379	0 gr. 710
7 au 8	17 ^{mm} ,6	0 gr. 4	1 cc3	15 ^{mm}	0 gr. 336	0 gr. 638
8 au 9	17 ^{mm} ,15	0 gr. 5	1 cc3	15 ^{mm}	0 gr. 437	0 gr. 681
9 au 10	11 ^{mm} ,6	0 gr. 4	1 cc3	15 ^{mm}	0 gr. 502	0 gr. 688
10 au 11	13 ^{mm}	0 gr. 4	1 cc3	15 ^{mm}	0 gr. 448	0 gr. 52
11 au 12	8 ^{mm} ,7	0 gr. 4	2 cc3	10 ^{mm}	0 gr. 23	0 gr. 777
12 au 13	30 ^{mm} ,5	0 gr. 34	2 cc3	30 ^{mm}	0 gr. 16	1 gr. 028

Bases puriques seules, en xanthine

Urines	Ronchèse		Thiéry		Folin	
			En grammes			
	Par litre	Par jour	Par litre	Par jour	Par litre	Par jour
5-6	0,027	0,069				
6-7	0,04	0,075				
7-8	0,033	0,063	0,027	0,051		
8-9	0,056	0,087	0,031	0,048		
9-10	0,027	0,037	0,02	0,027	0,02	0,027
10-11	0,037	0,043	0,035	0,04	0,025	0,029
11-12	0,015	0,051	0,009	0,030		
12-13	0,0072	0,037	0,005	0,029		

Discussion

L'examen de ces tableaux montre :

1° Que le chiffre des bases puriques qu'indique la méthode de Ronchèse oscille entre 0 gr. 015 et 0 gr. 09 par jour, chiffres extrêmes, la plupart des chiffres étant voisins de 0 gr. 05.

2° Qu'à plusieurs reprises : urines n° 3 et 7 de la première série, urines du 5 au 6 et du 6 au 7 de la deuxième série, les chiffres du procédé Thiéry sont supérieurs à ceux de la méthode Haycraft Denigès. Fort probablement il y a eu, soit que du précipité ait traversé le filtre, soit pour une cause inconnue, une précipitation d'argent en excès.

3° Que les chiffres d'acide urique indiqués par la méthode au ferrocyanure sont constamment supérieurs pour l'acide urique, partant inférieurs pour les bases puriques, à ceux du Ronchèse, et tantôt supérieurs tantôt inférieurs à ceux qu'indique la colorimétrie.

4° Que la méthode colorimétrique de Folin et Gri-gant donne, en général, des chiffres qui se rapprochent de très près de ceux qu'indique le Haycraft De-

nigès pour les corps puriques, leur restant en général légèrement inférieurs.

Grigaut s'est basé sur des résultats analogues pour émettre l'hypothèse qu'il est douteux que cette différence (entre les résultats d'une méthode comme le Ronchèse et la méthode cyanoargentimétrique) soit représentée entièrement par des bases xanthiques ».

Mais le réactif phosphotungstique, comme le ferrocyanure de zinc et de potassium, agit d'une manière que nous ignorons totalement. Nous ne connaissons pas sa constitution. Ce n'est pas de l'acide phosphotungstique ordinaire commercial, à probablement 12 TuO^3 ; puisque celui-ci ne donne rien. Peut-être est-ce un des 7 acides phosphotungstiques qui sont connus et dont la teneur en TuO^3 varie de 7 à 24 molécules, pour des teneurs assez constantes de 1 molécule de P^2O^5 , peut être un phosphotungstate de soude, sans doute un mélange de phosphotungstate et de phosphate de soude.

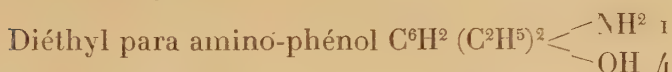
Il paraît, d'autre part, nécessaire qu'il y ait réduction du réactif pour qu'il agisse. Et la coloration obtenue est d'autant plus marquée que cette réduction est plus accentuée, que le réactif est plus fortement teinté. Non que le terme de la réduction soit actif par lui-même, puisqu'une réoxydation au permanganate ne trouble que faiblement la coloration fournie par le réactif, mais on peut supposer un dédoublement de la molécule, à chaud, en présence de PO^4H^3 , avec mise en liberté d'oxyde bleu Tu^2O^5 (qui colore la li-

queur, échappe à la réaction, et peut être réoxydé) et formation d'un composé actif plus riche en oxygène, et instable.

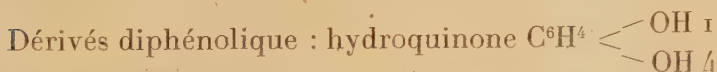
Les travaux d'Otto Folin et W. Denis, puis ceux de Grigaut, ont montré : les premiers que le réactif était spécifique pour les polyphénols et l'acide urique, le second qu'il l'était seulement pour l'acide urique, l'alloxane et l'alloxantine, parmi les nombreux composés organiques de l'urine normale, en admettant qu'il n'y ait que des traces de polyphénols ou de leurs dérivés dans l'urine.

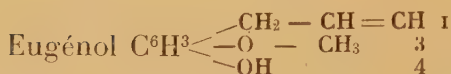
Voici d'après Folin et Denis, les corps qui donnent la réaction phosphotungstique :

Dérivés monophénoliques : para amino-phénol

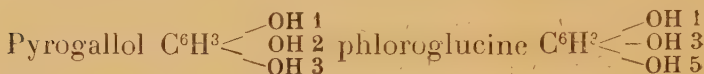


Ce sont les seuls dérivés monophénoliques qui donnent la réaction. Or, on sait avec quelle facilité les corps à fonction amine en position para, s'oxydent pour donner, par exemple, les quinones correspondantes. On peut les assimiler à de véritables diphé-nols.





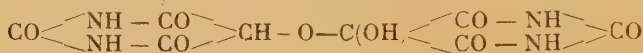
Triphénols : tous trois donnent la réaction.



Parmi les corps plus complexes à plusieurs fonctions phénol, citons encore l'adrénaline, la morphine. L' α naphtol, bien que n'ayant qu'une fonction OH, la donne aussi.

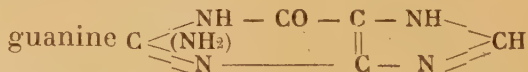
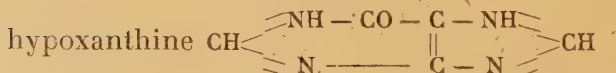
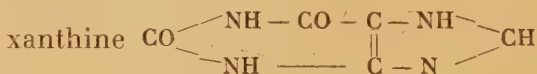
Si nous passons en revue les corps étudiés par Grigaut, nous trouvons que seuls l'acide urique,

l'alloxane $\text{CO} \begin{cases} \text{NH} - \text{CO} \\ \text{NH} - \text{CO} \end{cases} \text{CO}$ et l'alloxantine

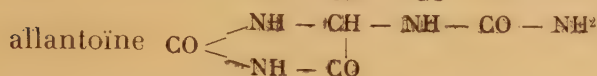
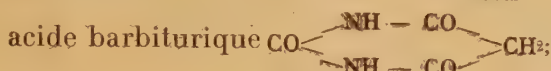
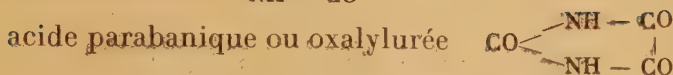


donnent la réaction.

Au contraire, aucun des corps suivants ne donnent la coloration bleue caractéristique :



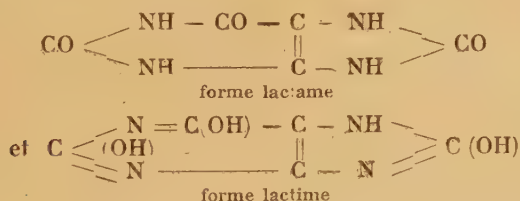
ni aucunes des autres bases puriques ou pyrimidiques, dont la formule s'éloigne de celle de l'acide urique (adénine, cytosine, uracile, etc).



parmi les produits d'oxydation de l'acide urique.

Ainsi le réactif de Folin et Denis semble être spécifique des fonctions polyphénoliques ou de leurs dérivés sodiques, la réaction ne se produisant qu'en milieu fortement alcalin.

Pour l'acide urique et ses produits d'oxydation, il semble que la spécificité soit du même ordre. On sait depuis E. Fischer que l'acide urique existe sous deux formes tautomères : la forme lactame, correspondant aux formes cétoniques des éthers β cétoniques et la forme lactime, correspondant aux formes énoliques de ces mêmes éthers.



Il est probable que la deuxième forme, celle qui correspond à l'urate neutre, à deux atomes de Na, est la seule qui donne la réaction.

Si on mélange du réactif phosphotungstique avec de l'urine, ou de la solution étalon, aucune réaction ne se manifeste. Et si on verse la solution alcaline, ce

n'est que lorsque celle-ci a atteint un certain taux, bien supérieur à la saturation des acides, environ 3 à 4 fois le volume urine + réactif, que la réaction commence à apparaître pour se foncer à mesure que l'on ajoute l'alcali. En même temps, a lieu un dégagement de gaz, sans doute le CO^2 du carbonate. Il semble qu'il soit nécessaire que le sel disodique se forme pour que la réaction s'accomplisse. Les dérivés uréiques qui ne donnent pas la réaction; hydantoïne, acides parabannique et barbiturique, etc., ne donnent pas non plus de sel disodique.

On peut admettre de même que les phénols polyvalents n'agissent pas autrement. Les polyphénols, surtout les triphénols et en particulier la phloroglucine, ont été considérés comme la forme énolique des cétonés correspondantes avec lesquelles ils ont de nombreuses analogies, en particulier la tendance à donner des sels de soude et des colorations diverses avec les sels métalliques.

Le réactif phosphotungstique serait ainsi spécifique des corps à chaîne fermée, possédant dans leur molécule deux ou plusieurs fonctions émol = $\text{C}(\text{OH})$ pouvant donner des sels de soude.

Le mécanisme de la réaction serait une réduction. Bien d'autres agents réducteurs, minéraux ou organiques, réduisent TuO^3 en TU^2O^5 bleu. A. Richaud et Bidot, dès 1909, ont signalé la coloration bleue du réactif phosphotungstique par les sels de protoxyde de fer.

Les recherches de Potescu montrent que l'hypo-

sulfite de soude, le chlorure stanneux, le sulfure d'ammonium, etc., donnent la réaction.

Il paraît donc difficile de conclure que le réactif de Folin ne dose dans l'urine que l'acide urique, et que les bases xanthiques n'existent dans l'urine qu'à l'état de traces, quelques centigrammes au maximum, les autres méthodes donnant des différences plus considérables par erreur. On peut adresser au réactif phosphotungstique les mêmes critiques que P. Thomas adresse au réactif phosphomolybdotungstique pour le dosage de la tyrosine : Est-on en droit d'admettre qu'il n'existe dans l'urine aucun produit réducteur capable d'agir sur le réactif de Folin, autre que l'acide urique ?

Ainsi la réaction phosphotungstique serait surtout capable de donner au clinicien, comme la méthode de Denigès, et mieux qu'elle, parce qu'elle n'est pas influencée par les bases xanthiques, une approximation sur le chiffre de l'acide urique seul. Elle présente de plus l'avantage de nécessiter seulement de faibles quantités d'urine, et d'être très rapidement et très commodément exécutée.

La méthode de Thiéry, dont les résultats sont le plus souvent intermédiaires entre ceux du Denigès (ou du Folin) et ceux du Ronchèse, donne elle aussi un chiffre approximatif, bien suffisant pour l'étude clinique.

Conclusion

1° Sans pouvoir dire que la méthode préconisée par M. Thiéry est fausse, il nous semble qu'elle n'offre pas les garanties que l'on demande d'habitude aux méthodes de laboratoire. Elle semble convenir à l'hôpital, ses écarts pouvant se concilier parfaitement avec les exigences de la clinique.

2° S'il paraît difficile de conclure à la non existence des bases puriques en se basant sur les résultats de la méthode colorimétrique de Folin, celle-ci convient parfaitement pour doser l'acide urique. Sa simplicité de mise en œuvre, sa rapidité d'exécution, le faible volume d'urine qu'elle nécessite, en rendent l'emploi particulièrement précieux au praticien.

Vu le Doyen

ROGER.

Vu le Président

DESGREZ.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

APPEL.

Bibliographie

- CHAUFFARD, BRODIN et A. GRIGAUT. — C. R. Société de Biologie : Le dosage de l'acide urique dans le sang. T. LXXXIII, n° 16, 8 mai 1920, p. 672.
- OTTO FOLIN et W. DENIS. — On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents : *Journal of Biological chemistry*, vol. XII, 1912, p. 239.
- A. GRIGAUT. — Procédé colorimétrique de dosage de l'acide urique dans le sang. C. R. Société de Biologie. T. LXXXIII, n° 28, 16 octobre 1920, p. 1273.
- A. GRIGAUT. — Spécificité de la réaction phosphotungstique pour le dosage de l'acide urique. Le rapport des bases xanthiques à l'acide urique. C. R. Société de Biologie. T. XXXIV, n° 12, 9 avril 1921, p. 632.
- H. MOISSAN. — Traité de chimie minérale, T. IV, p. 774 et 796.
- A. RICHAUD et BIDOT. — Sur une nouvelle réaction colorée des protoxides de fer et sur quelques applications de cette réaction. *Journal de pharmacie et de chimie*, 1^{er} mars 1909, p. 230.
- M. THIÉRY. — Le ferrocyanure de zinc et de potassium comme agent de précipitation des urines. Application au dosage séparé de l'acide urique et des bases xanthiques : *Journal de pharmacie et de chimie*, 16 juin 1921, p. 494.
- M. THIÉRY. — Application de la réaction phosphotungstique de Folin et Denis au dosage de l'acide urique dans l'urine. *Journal de pharmacie et de chimie*, 1^{er} février 1922, p. 87.
- P. THOMAS. — Le dosage colorimétrique de la tyrosine et l'indice phénolique des protéiques. *Annales de l'Institut Pasteur*, T. XXXVI, n° 3, mars 1922.
- ER. TOPORESCU. — Les entraînements des corps solubles par certains précipités. Thèse doctorat ès-sciences, Paris 1922.

